

Protokoll: nanoparticle tracking

Tom Kranz, Philipp Hacker

20. November 2014

Betreuer: M. Paßvogel
Versuchsdatum: 22.10.2014

Note:

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	2
2	Physikalische Grundlagen	2
2.1	Brownsche Bewegung	2
2.2	Diffusion	2
2.2.1	Osmose	3
2.3	Gesetz von Stokes	3
2.4	Stokes-Einstein Gleichung	3
3	Durchführung	5
3.1	Versuchsanordnung	5
3.2	Versuchsablauf	5
4	Auswertung	6
4.1	Diskussion	6
5	Anhang	6

1 Einleitung

Die Methode des *nanoparticle trackings* ermöglicht die Bestimmung der Größe von Teilchen (Größenbereich 10 – 1000 nm) durch die Verfolgung ihrer Bewegung, die Kenntnis über Temperatur und Viskosität.

Hierbei werden die Bewegungen der Partikel durch ein Mikroskop hindurch analysiert. Die zu untersuchende Lösung der Teilchen wird von einem Laser beleuchtet und mit einer, hinter dem Mikroskop angebrachten CCD- bzw. EMCCD-Kamera beobachtet. Die Aufnahme, welche mehreren Bildern pro Sekunde (frame) entspricht, wird mittels Computer-Software ausgewertet. Die Bewegung eines jeden einzelnen Teilchens wird so einzeln verfolgt.

Tatsächlich sind Messungen dieser Art unabhängig von der Brechung, ob durch die Flüssigkeit oder den Targetbehälter, und der Konzentration der Suspension. Das *nanoparticle tracking* ist, in Hinsicht auf die Größe der Teilchen, von unten durch die Streuung des Lichts an den Targets und von oben durch die hohe Viskosität und langsame Diffusion beschränkt.

Anwendung findet dieses neue Feld der Technik (2003) in der (Öko-)Toxikologie, Virologie bei Proteinfaltungserkrankungen und der Herstellung von Tinten.

2 Physikalische Grundlagen

2.1 Brownsche Bewegung

Der Botaniker *Robert Brown* wiederentdeckte 1827 die Abhängigkeit der Intensität der Bewegung von Molekülen und Atomen in Gasen und Flüssigkeit. Der Zusammenstoß eines gelösten Teilchens mit dem Lösungsmittel lässt jedes mal eine Kraft wirken, woraus eine Bewegungsänderung dessen folgt. Diese 'zufälligen' Bewegungen summieren sich, im Grenzfall unendlich vieler Stöße, zu Null.

Nach *Einstein* und *Smoluchowski* folgt, dass die mittlere quadratische Verschiebung pro Zeit eines Teilchens σ^2 sich zusammensetzt aus:

$$\sigma^2 = \frac{R \cdot T}{N_A \cdot 3 \cdot r \cdot \pi \cdot \eta}.$$

(R - universelle Gaskonstante; T - absolute Temperatur; N_A - Avogadro-Konstante; r - Radius eines Teilchens; η - Viskosität des Lösungsmediums)

In der Mathematik entspricht die *brownsche Bewegung* einer Gauß-Verteilung des Ortes.

Die Differentialgleichung für die Bewegung eines Teilchens kann man, mit der stochastischen, thermischen Kraft ($f(t)$; $\langle f(t) \rangle = 0$), als

$$m \cdot \frac{d^2 x(t)}{dt^2} = -m \cdot \frac{dx(t)}{dt} \cdot \xi + f(t)$$

(m - Masse Teilchens; $x(t)$ - Ort des Teilchens; ξ - Reibungskoeffizient) schreiben.

2.2 Diffusion

Die Prozess der Diffusion beschreibt die gleichmäßige Verteilung von Teilchen in einem Stoffgemisch: Atome, Moleküle oder Ladungsträger in Gasen und Flüssigkeiten. Sie findet dort statt,

wo für die Konzentration $\text{grad}(c) \neq 0$ bzw. die Teilchenzahldichte $\text{grad}(n) \neq 0$ ist. Haben die Funktionen von c und n keine Quellen bzw. Senken und befinden sich somit im stationären Konzentrationsgefälle, so besteht eine absolute Gleichverteilung. Es folgt das 1. *Fick'sche Gesetz*:

$$\vec{j}_n = -D \cdot \text{grad}(n) \quad \text{wobei} \quad ||\vec{j}_n|| = \frac{\text{Zahl der Teilchen pro Sekunde}}{\text{Fläche}}$$

$$\rightarrow \frac{dn}{dt} = -\text{div}(\vec{j}_n)$$

(\vec{j}_n - Teilchenstromdichte; D - Diffusionskoeffizient) und das 2. *Fick'sche Gesetz*:

$$\frac{dn}{dt} = D \cdot \nabla^2 n \quad \text{und} \quad \vec{j}_n = -D \cdot \frac{\delta c}{\delta x}$$

$$\rightarrow \frac{\delta c}{\delta t} = D \cdot \frac{\delta^2 c}{\delta x^2}$$

Dieser Ausdruck beschreibt instationäre Konzentrationsflüsse- bzw. ströme.

2.2.1 Osmose

Das Prinzip der Osmose besagt, dass sich ein Druckunterschied bei einem diffundierenden Konzentrationsausgleich zweier verbundener Flüssigkeitssäulen einstellt. Der osmotische Druck (1) ist, neben der angegebenen Relation, proportional zur Temperatur und der Konzentration.

$$\Delta p = \rho \cdot g \cdot h \quad (1)$$

(h - Höhenunterschied; ρ - Flüssigkeitsdichte; Δp - Druckunterschied).

2.3 Gesetz von Stokes

Bewegt sich eine Kugel vom Radius r , Massendichte ρ_K , Volumen V_K mit der Geschwindigkeit v durch eine Flüssigkeit der Viskosität η ; Dichte ρ_{Fl} unter Einwirkung des Schwerfeldes der Erde nach unten, so gilt für das Gleichgewicht der Kräfte nach *Stokes*:

$$F_G + F_{\text{Auftrieb}} + F_{\text{Reibung}} = \rho_K \cdot V_K \cdot g + (-\rho_{Fl} \cdot g \cdot V_K) + (-6\pi \cdot r \cdot \eta \cdot V_K \cdot v) \quad (2)$$

2.4 Stokes-Einstein Gleichung

(auch *Einstein-Smoluchowski-Beziehung*)

Betrachtet man, unter Beachtung des *Stokes'schen Gesetzes* (2)

$$c(x, t) \cdot v + j(x, t) = 0,$$

so erhält man:

$$\frac{c(x, t)}{6\pi\eta r} \cdot F_R - D \frac{\delta c}{\delta x} = 0 \quad \text{mit der Lösung} \quad c(x, t) = \frac{N_0}{2A\sqrt{\pi Dt}} e^{-\frac{x^2}{4Dt}}. \quad (3)$$

(N_0 - Gesamtteilchenzahl; A - Grundfläche des sinkenden Körpers). Mit dem *van't Hoff'schen Gesetz*

$$p \cdot V = n_m \cdot R \cdot T \quad (4)$$

(n_m - gelöste Molzahl; $c = \frac{n_m}{V}$) folgt durch Beachtung von (2.2.1)

$$c(x) \cdot F_{osmot.} - \frac{R \cdot T}{N_A} \frac{\delta c}{\delta x} = \frac{dp}{dx} - \frac{R \cdot T}{N_A} \frac{\delta c}{\delta x}. \quad (5)$$

Der Vergleich von (5) und (3) liefert

$$D = \frac{\frac{R}{N_A} T}{6\pi r \eta} = \frac{k_B T}{6\pi r \eta}. \quad (6)$$

Der Diffusionskoeffizient ist demnach direkt proportional zur Temperatur. Außerdem gehen die Abmessung des Teilchens und die Viskosität des Lösungsmediums ein.

Da auch η von der Temperatur beeinflusst wird, kann ohne die Kenntnis über die genauen Zusammenhänge keine konkrete Aussage über die Abhängigkeiten von D getroffen werden. Löst man das Integral bezüglich dem mittleren Abstandsquadrat, welches die Wahrscheinlichkeit einer Diffusionsbewegung zwischen x und $x + dx$ eines Teilchens beschreibt, so sieht man

$$\langle x^2 \rangle = \int_{-\infty}^{\infty} x^2 p(x) dx = \int_{-\infty}^{\infty} x^2 \frac{1}{\sqrt{2\pi Dt}} e^{-\frac{x^2}{4Dt}} dx = 2Dt. \quad (7)$$

Diese Beziehung über den Diffusionskoeffizienten ermöglicht eine grobe Abschätzung von Teilchengrößen in allen Aggregatzuständen.

3 Durchführung

3.1 Versuchsanordnung

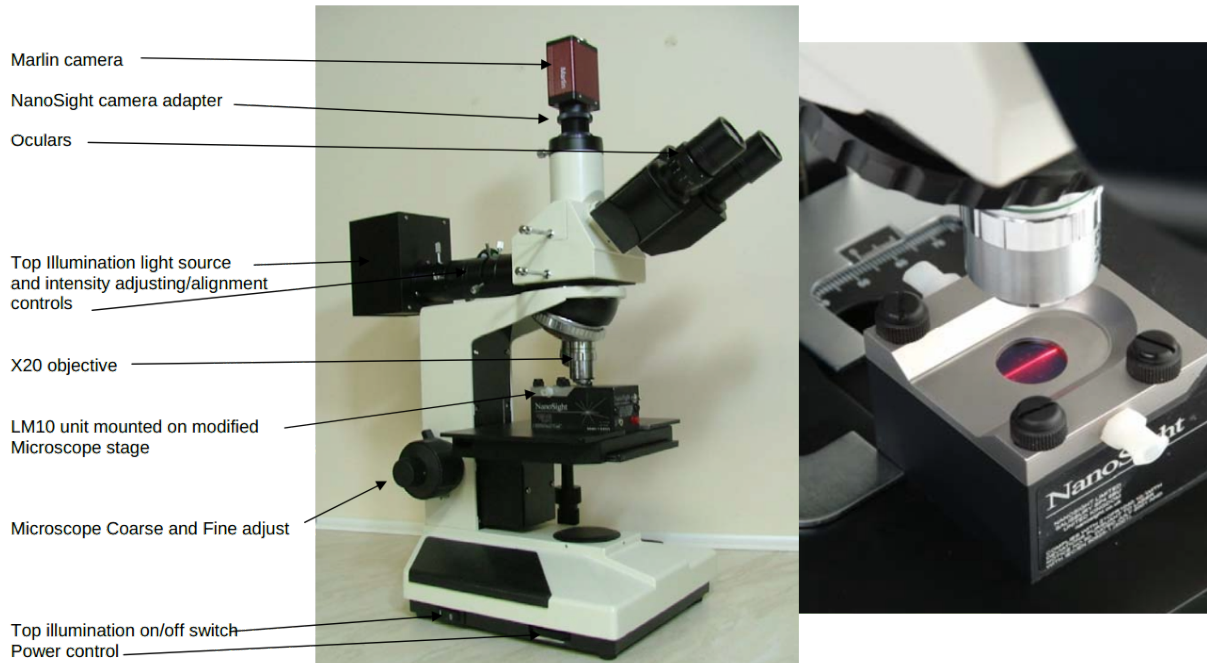


Abb. 1: Mikroskop mit CCD-Kamera, Versuchszelle und LASER

Die Messzelle enthält die zu untersuchenden $500\ \mu\text{l}$ Suspension. Sie lässt sich mittels Spritze über Ein- und Auslaufstutzen reinigen, befüllen und entleeren. In ihr integriert ist bereits ein Einmoden-Diodenlaser der Klasse 1 ($P < 20\ \text{mW}$; $\lambda = 655\ \text{nm}$). Die aufgesetzte CCD-Kamera erfasst durch das Mikroskop die, vom LASER-Strahl getroffenen, propagierenden Partikel. Durch den Mikroskoptisch kann eine Scharfstellung des Bildes erfolgen, sowie ein geeigneter Bereich für die Aufnahme ausgewählt werden. Die Daten der Kamera werden von einer proprietären Software ausgewertet und grafisch bzw. in Echtzeit unverändert dargestellt.

3.2 Versuchsablauf

Mit dem Beschriebenen Aufbau werden 2 unterschiedliche Kaffeeelösungen untersucht. Die betrachteten Partikel befinden sich im Nanometerbereich.

Für die Verifizierung der Zusammenhänge werden bei, einer möglichst konstanten Temperatur, sowohl Konzentrationen als auch Aufnahmedauern verändert. Beachtet werden muss jedoch, dass polydisperse Lösungen vorliegen.

In der Software können Kontrast und weitere Kameraeinstellung bearbeitet werden, sodass ein möglichst gutes Bild mit wenigen 'toten' Teilchen (Partikel, deren tracking nicht über die gesamte Aufnahme oder nur über ein paar *frames* betrieben werden kann) aufgenommen wird. Weiterhin ist es wichtig, eine nicht zu hohe Konzentration und zu kurze Aufnahmedauer auszuwählen, da die Leistung der Kamera und der Software begrenzt sind. Schließlich nimmt

das Programm der **NANOSIGHT Ltd.** alle Berechnungen und Bestimmungen intern vor und liefert die gesuchten Daten.

4 Auswertung

Die von **NTA** ausgegebenen Dateien enthielten Daten zu einzelnen verfolgten Partikeln. Diese mussten von nicht relevanten Datensätzen (vom Programm als solche gekennzeichnet) und Mehrfachnennungen der übrigen Partikel befreit werden und konnten dann zur Erstellung von Histogrammen und zur grundlegenden statistischen Analyse benutzt werden. Das Ergebnis kann im Anhang betrachtet werden, wobei der Mittelwert der jeweils ausgewerteten Größe als schwarze Linie und die einfache Standardabweichung als graue Umgebung gekennzeichnet sind. Für die durchschnittlichen Partikeldurchmesser des Automaten- und des Maschinenkaffees wurden die jeweils berechneten Mittelwerte und ihre Standardabweichungen untereinander gemittelt, wobei Werte, die aus längeren Messungen stammen, eine höhere Gewichtung zukam. Für die Diffusionskoeffizienten wurden die Mittelwerte bei gleicher Konzentration benutzt, da die Verdünnung Einfluss auf diese Größe hat.

$\bar{d}_{\text{Automat}} / \text{nm}$	$\bar{D}_{\text{A, 1:9}} / \frac{\mu\text{m}^2}{\text{s}}$	$\bar{d}_{\text{Maschine}} / \text{nm}$	$\bar{D}_{\text{M, 1:4}} / \frac{\mu\text{m}^2}{\text{s}}$	$\bar{D}_{\text{M, 1:9}} / \frac{\mu\text{m}^2}{\text{s}}$	$\bar{D}_{\text{M, 1:19}} / \frac{\mu\text{m}^2}{\text{s}}$
(134 ± 83)	$(2,5 \pm 1,1)$	(137 ± 72)	$(8,0 \pm 5,0)$	$(4,3 \pm 2,3)$	$(5,1 \pm 3,0)$

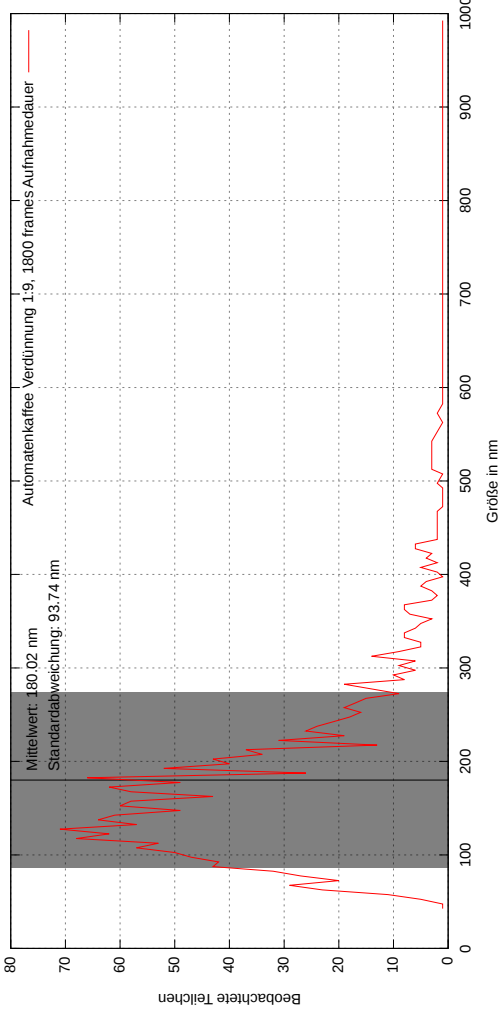
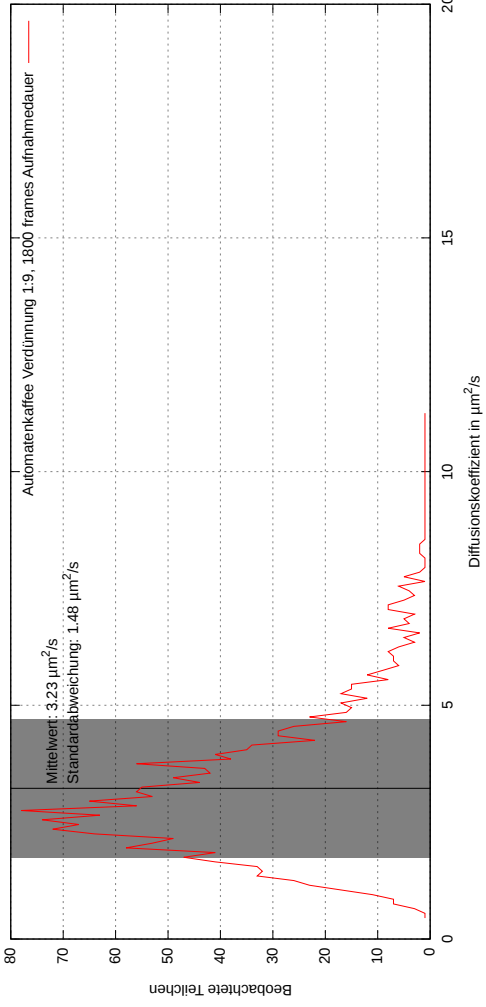
Beim Betrachten der Histogramme fällt die große Standardabweichung im Verhältnis zum Mittelwert auf. Auch sticht ins Auge, dass ein klassischer Mittelwert der Messverteilung nicht gerecht wird, da dieser sich teilweise bereits weit auf der abfallenden Flanke der Verteilung befindet, während sich die Messungen um einen anderen Wert häufen. Eine genauere Analyse der Messwertverteilungen wäre daher angebracht, um eventuell genauere Werte zu gewinnen – momentan wird der Ungenauigkeit durch einen großen Messfehler (Standardabweichung) Rechnung getragen.

Das Programm selbst bietet eine Zusammenfassung der gemessenen Daten an, jedoch gibt diese unter Umständen verschiedene Größen aus und die Werte für die ausgegebenen Größen liegen weit außerhalb der Möglichkeiten des Messwertspektrums.

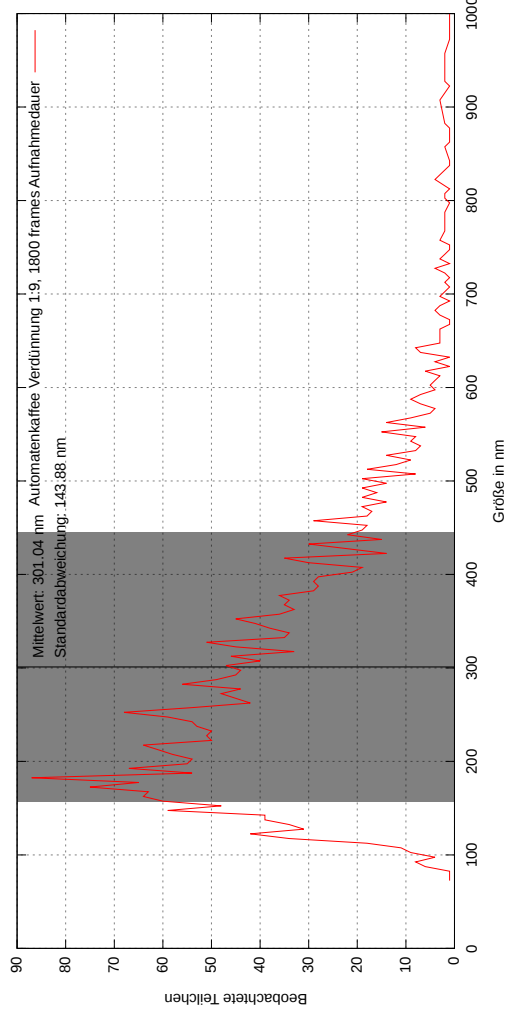
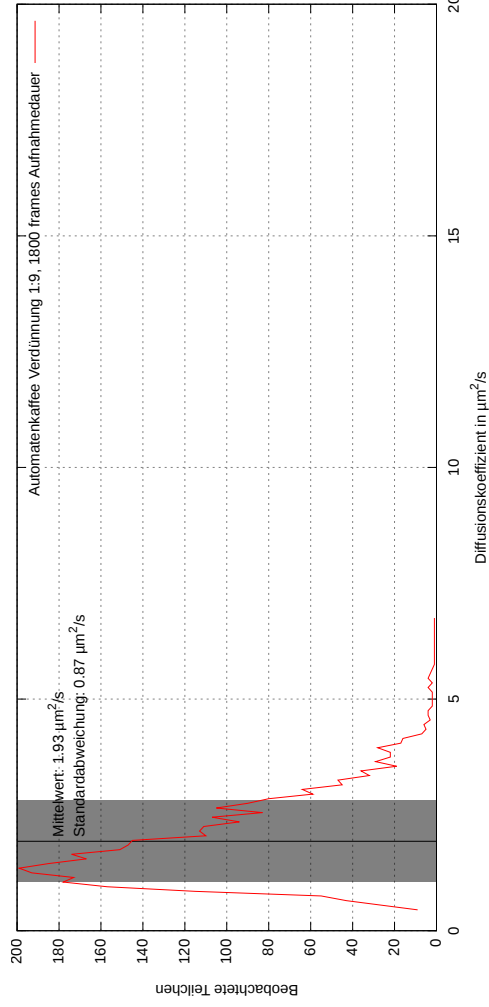
Zu Fehlerquellen in der Messung liegen uns keine relevanten Informationen vor, da die gesamte Messapparatur ein proprietäres Design darstellt und keinen Einblick in die Messungen zulässt; die Auswertung erfolgt allein über die ausgegebenen Daten der zugehörigen Software. Es lassen sich aber externe Faktoren erahnen, welche mehr oder weniger starken Einfluss auf die Messungen haben könnten: Vibrationen des Experimentiertisches, Temperaturschwankungen (die Messung findet unter der Voraussetzung einer konstanten Temperatur statt), Verunreinigungen der untersuchten Suspension und der optischen Bauteile des Aufbaus.

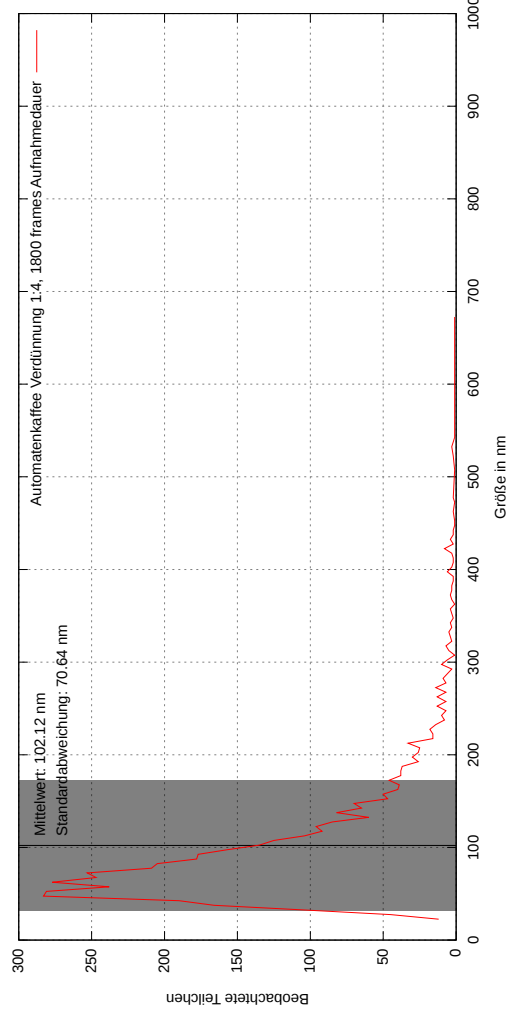
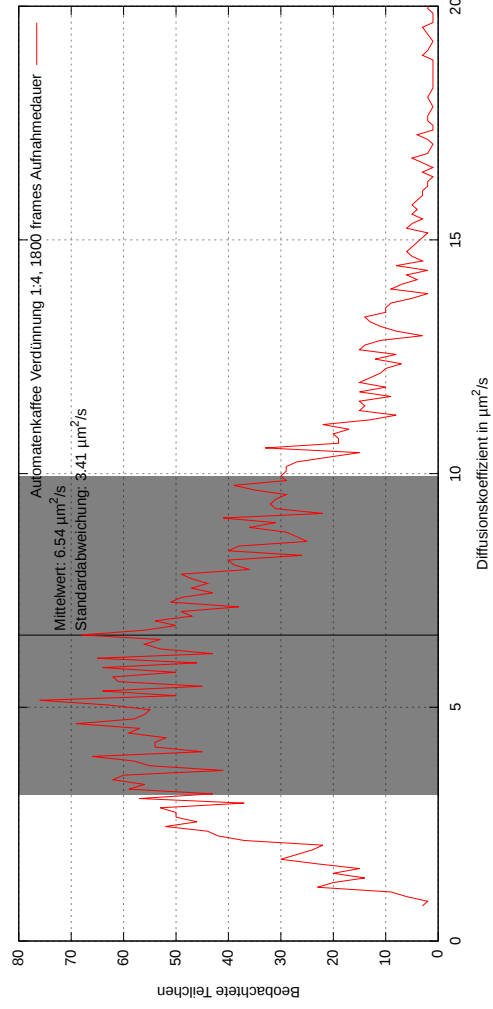
5 Anhang

5.1 Messwerte

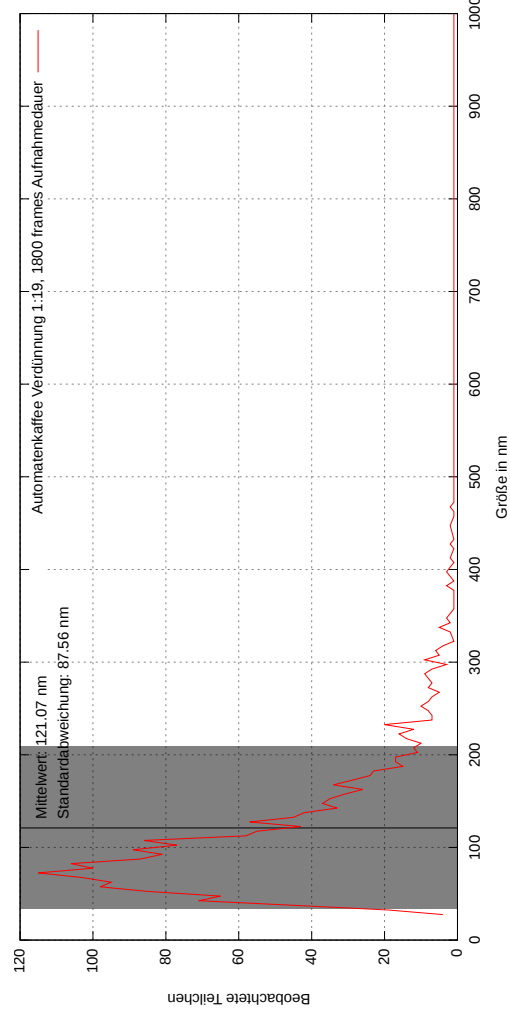
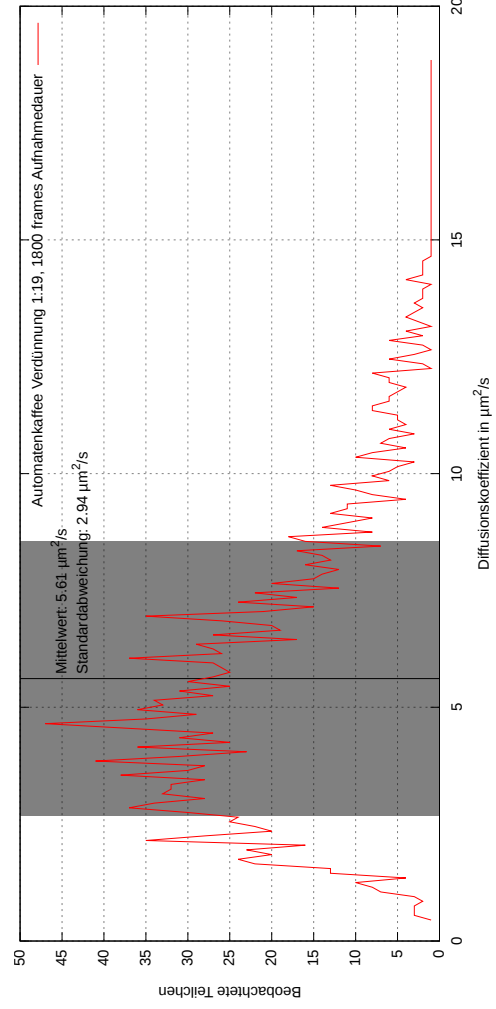


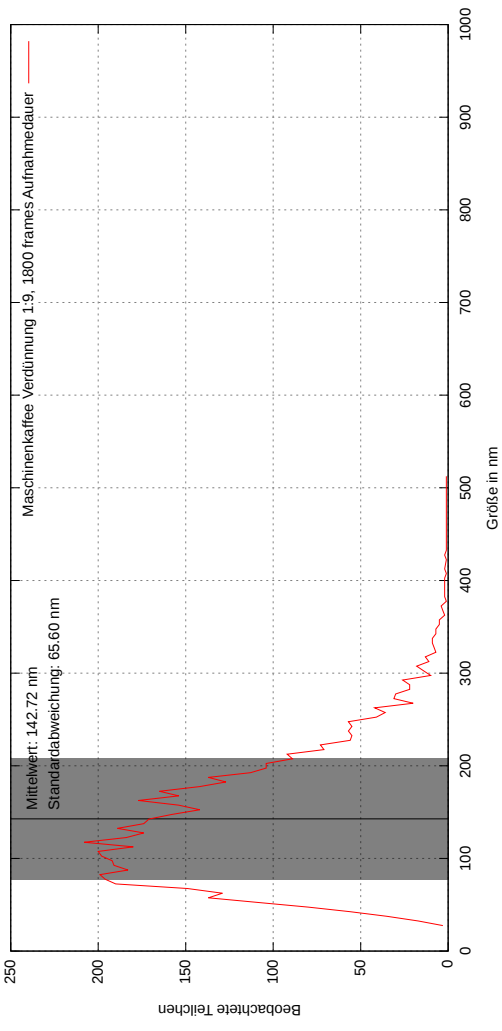
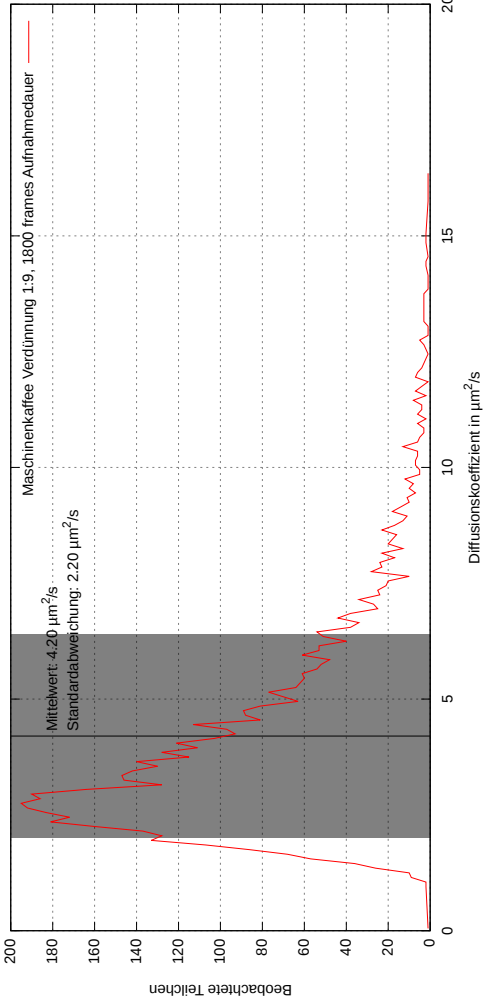
7



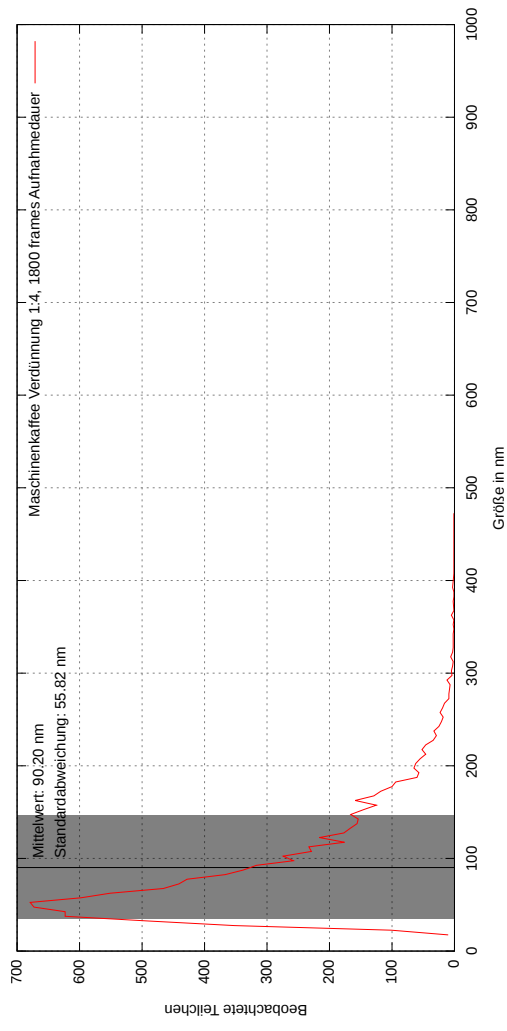
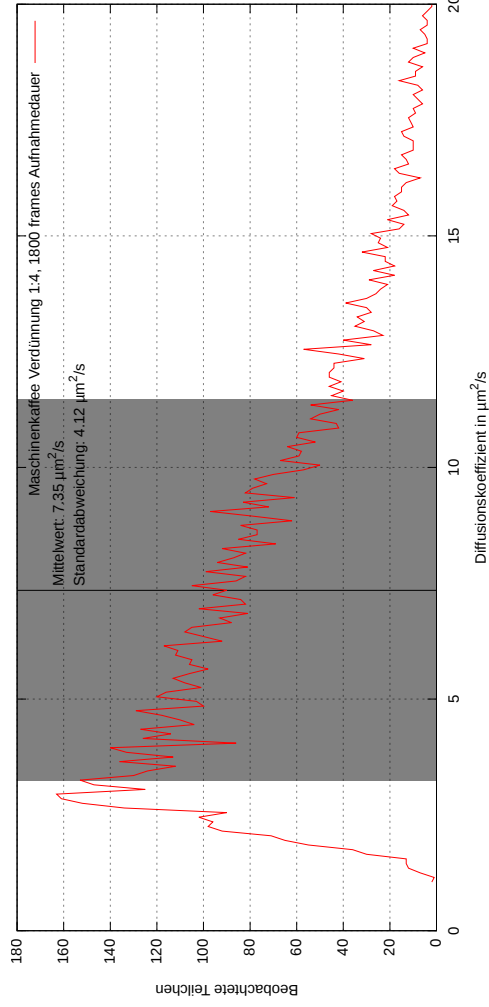


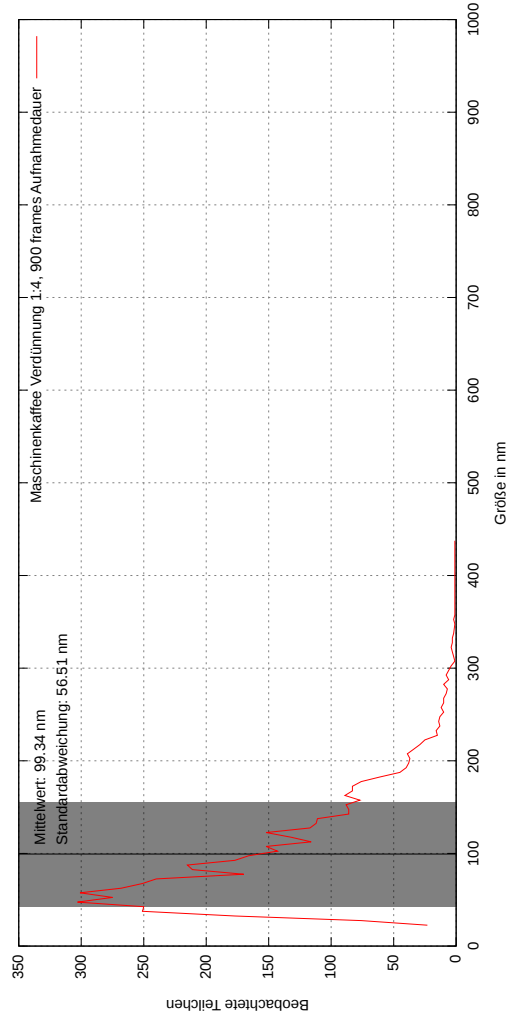
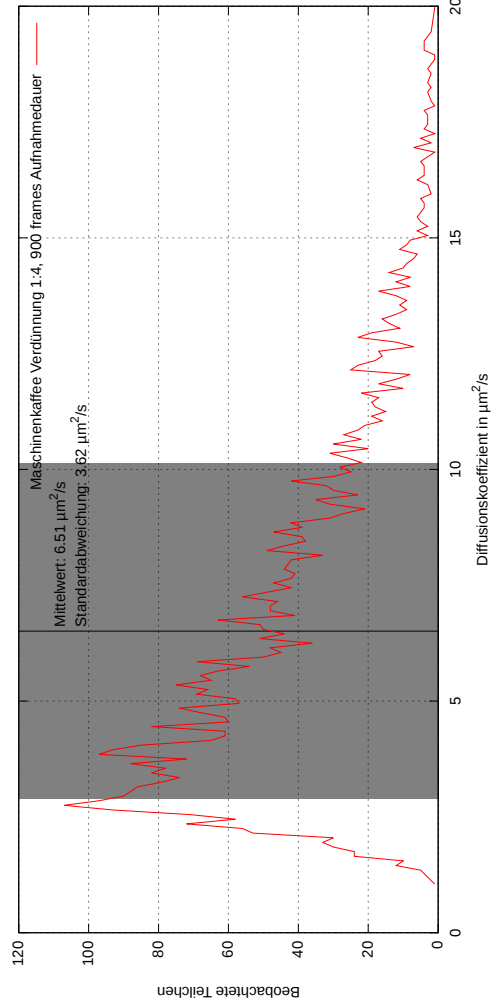
8



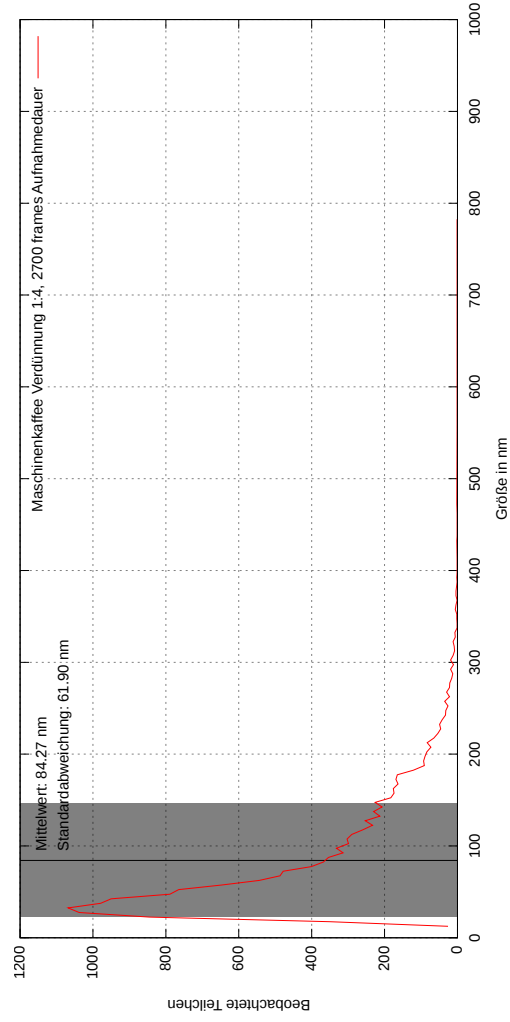
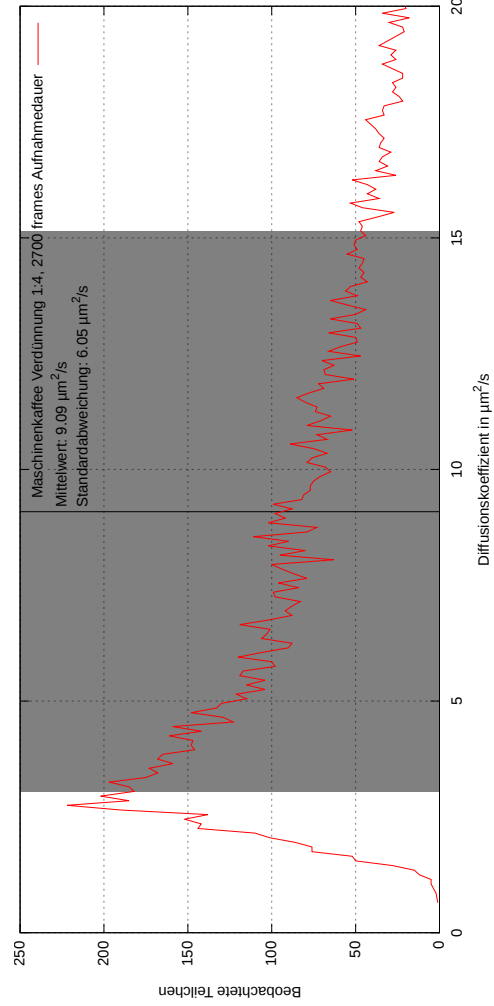


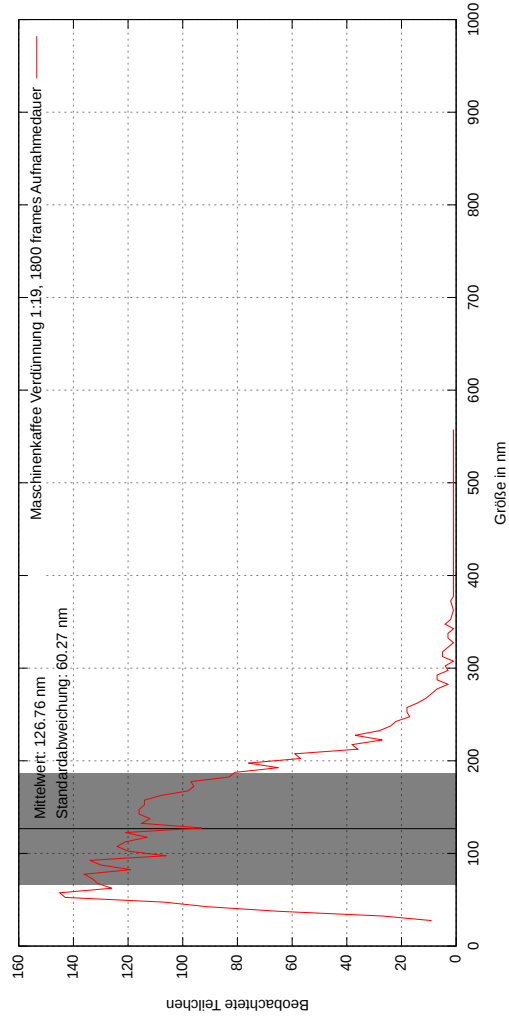
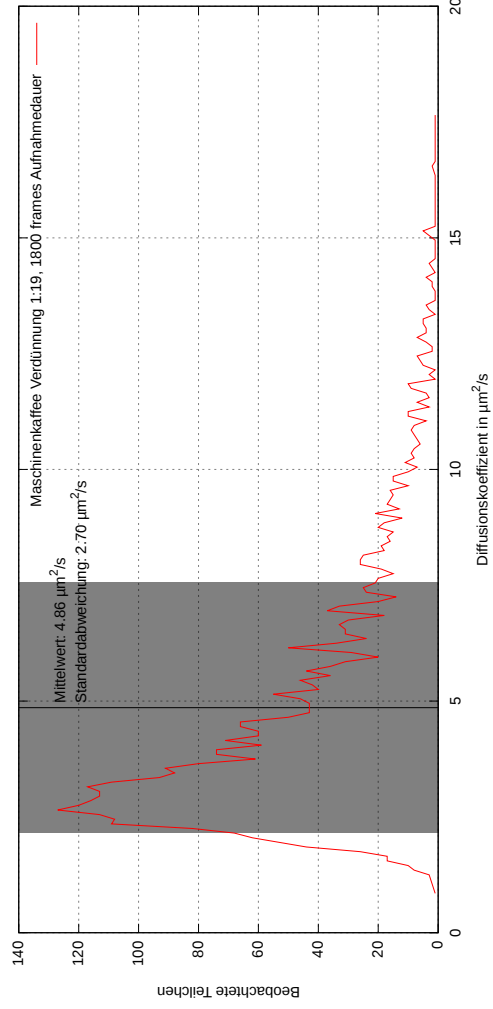
6



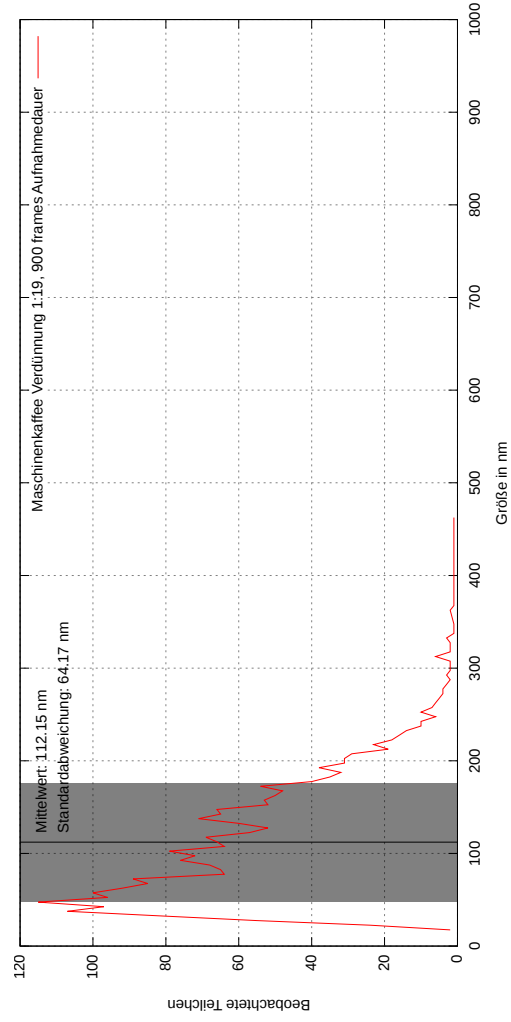
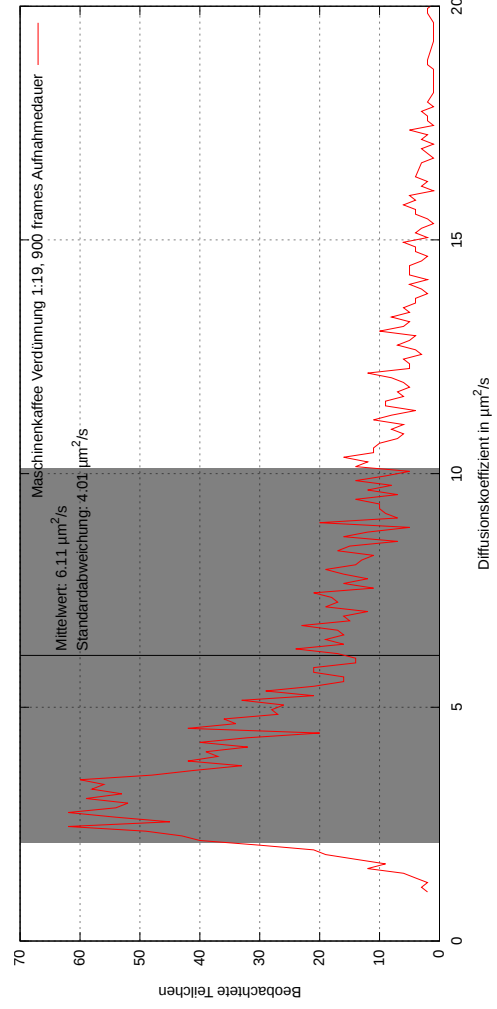


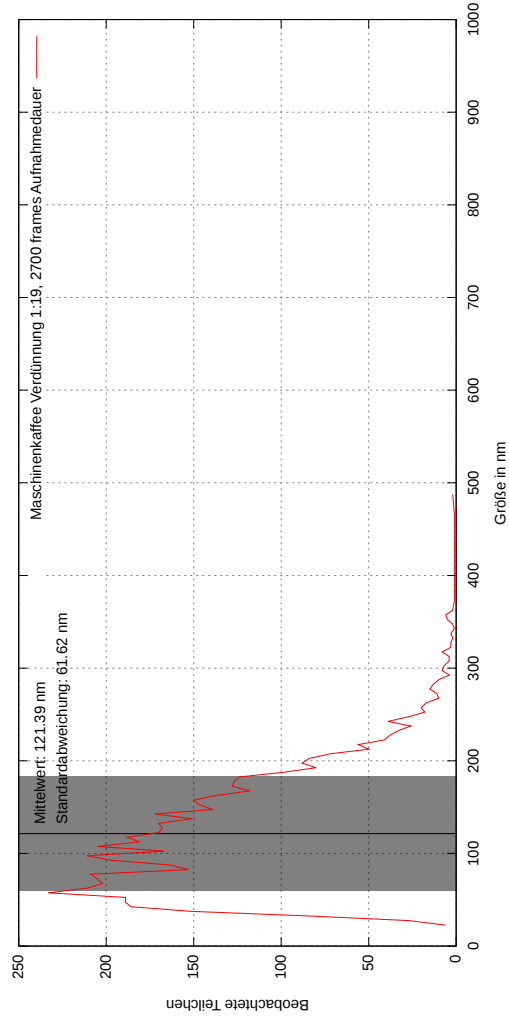
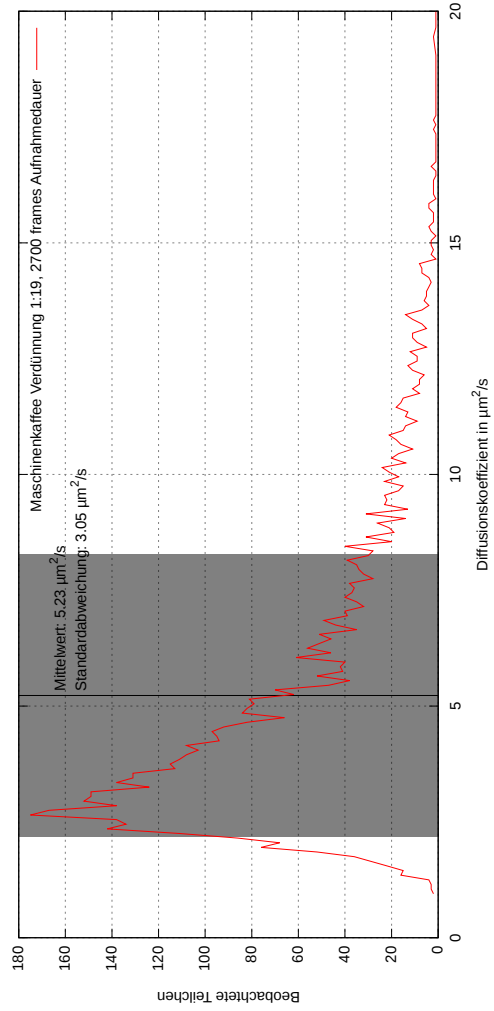
10



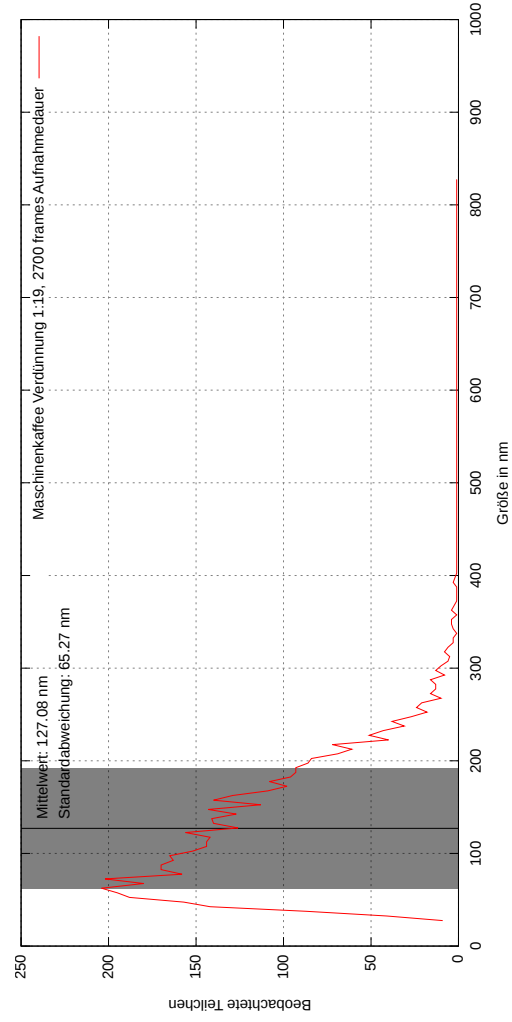
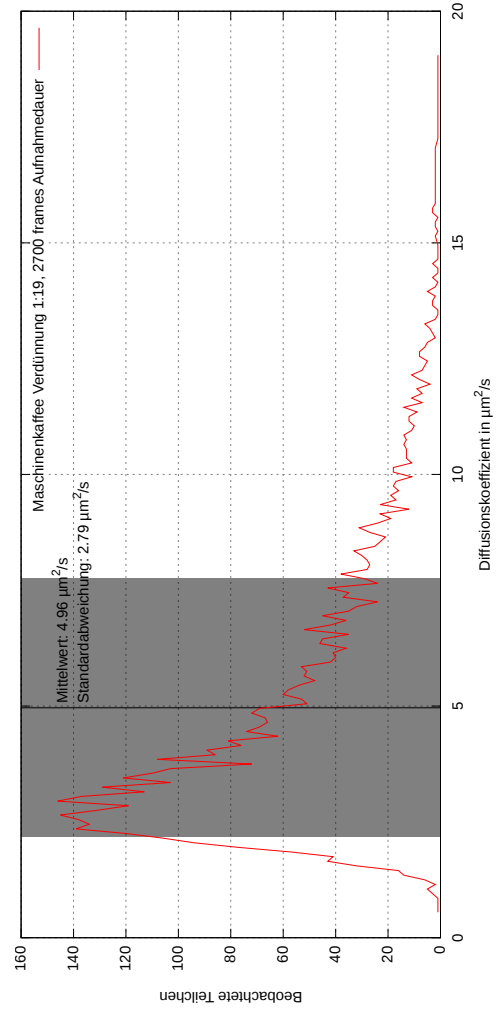


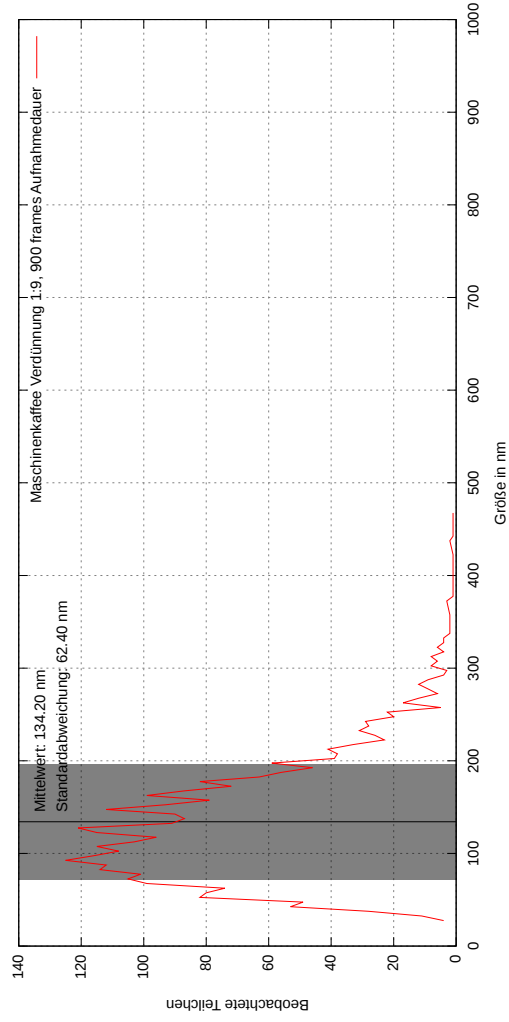
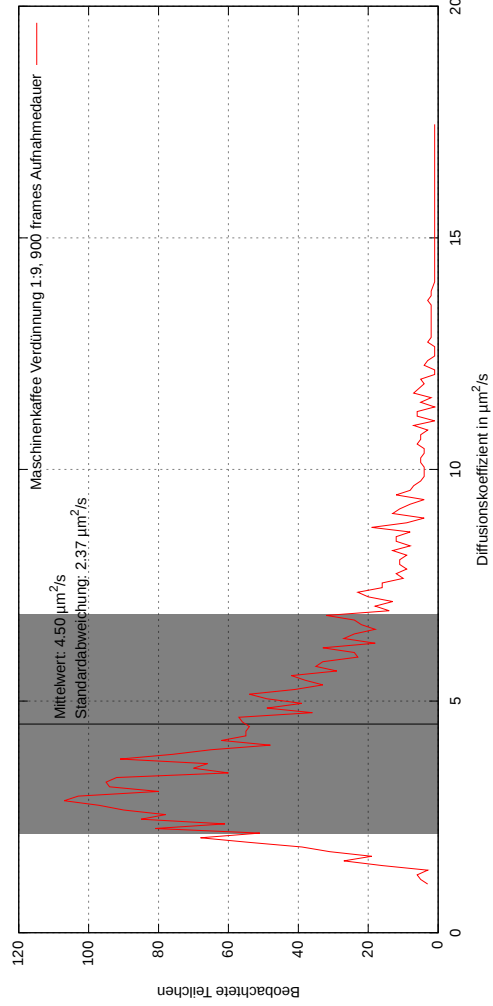
11





12





13

